

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Waktu dan tempat.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober hingga Desember 2017 selama 3 bulan yang bertempat di Laboratorium Agronomi Universitas Muhammadiyah Malang.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan antara lain timbangan analitik, refraktometer, penetrometer, baskom, seedbox, keranjang nampan, gunting, pisau. Sedangkan alat yang digunakan untuk analisis dan pengamatan yaitu pipet tetes, pipet ukur, cawan aluminium, gelas ukur, pisau dapur, tabung reaksi, labu erlenmeyer, biuret, penjepit, alat tulis dan kamera.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu antara lain buah belimbing segar dengan 3 tingkat kematangan buah, pengemas buah foamnet, kertas koran, plastik wrap, karet gelang, dan air.

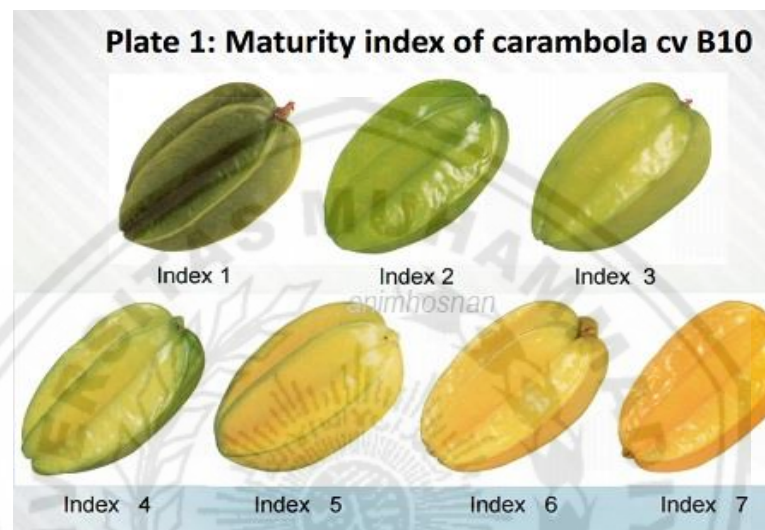
3.3. Metode Penelitian

Penelitian pengaruh jenis pengemas buah pada tingkat kematangan buah belimbing manis ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor, yaitu : pertama adalah indeks kematangan buah (K), indeks kematangan buah belimbing manis, terdiri dari :

K1 = Indeks kematangan 2 (Buah belimbing berwarna kuning hijau)

K2 = Indeks kematangan 3 (Buah belimbing berwarna kuning dengan sedikit hijau)

K3 = Indeks kematangan 4 (Buah belimbing berwarna kuning)



Gambar 3. Pedoman deskripsi warna kulit buah belimbing berdasarkan skor (indeks) warna (Anem, 2017)

Sedangkan faktor kedua adalah jenis pengemas buah (P), Faktor kedua terdiri dari :

P0 = Kontrol (Tanpa Pengemasan)

P1 = Pengemas menggunakan kertas koran

P2 = Pengemas menggunakan plastik wrap

P3 = Pengemas menggunakan foamnet

Sehingga diperoleh 12 kombinasi dengan 3 ulangan dan sampel sebanyak 5 buah belimbing.

Kombinasi Perlakuan

Kombinasi perlakuan yang didapatkan antara lain yaitu :

	K1	K2	K3
P0	K1P0	K2P0	K3P0
P1	K1P1	K2P1	K3P1
P2	K1P2	K2P2	K3P2
P3	K1P3	K2P3	K3P3

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Pemilihan Buah Belimbing

Buah belimbing yang siap panen dibeli dari petani buah belimbing yang berada di Desa Karangsari, Kota Blitar. Buah belimbing yang digunakan dipilih dengan 3 indeks kematangan sesuai perlakuan yang akan dilakukan, yang masih bagus, tidak memiliki cacat fisik, memiliki ukuran, bentuk dan umur yang seragam, serta layak untuk di konsumsi.

3.4.2. Pencucian.

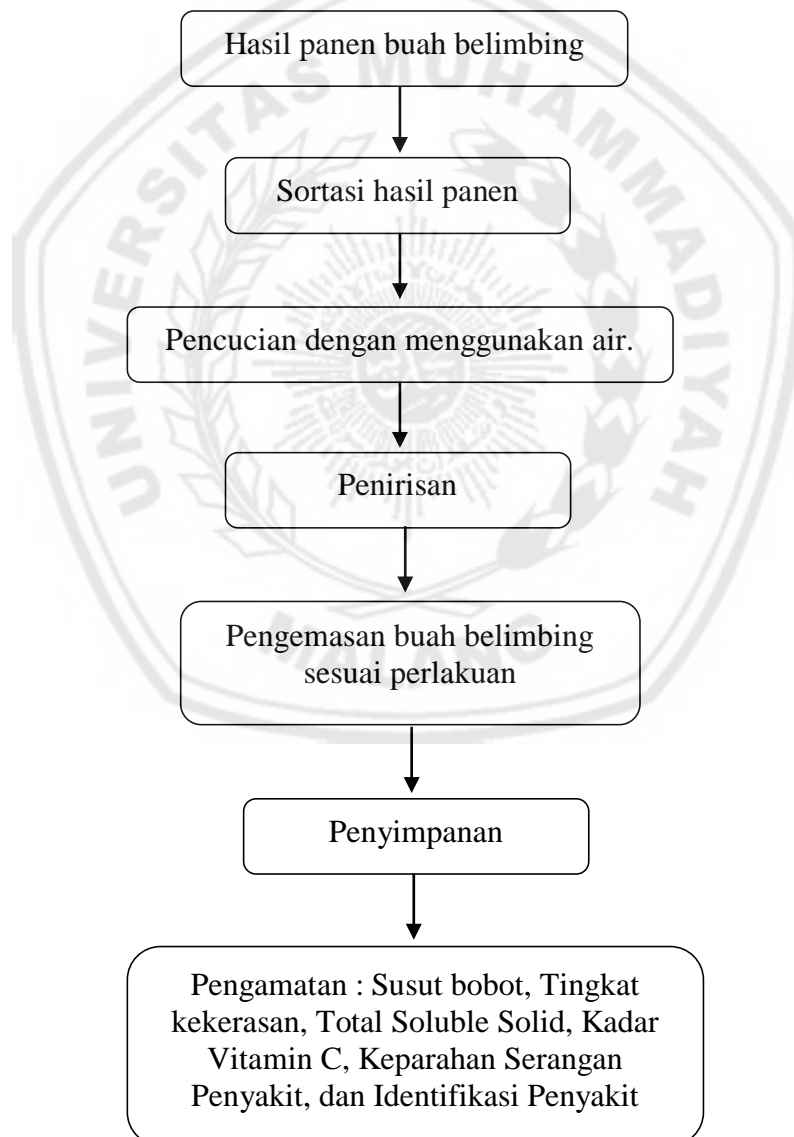
Buah belimbing yang telah melalui tahap sortir di cuci dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada kulit buah belimbing.

3.4.3. Penirisan

Buah belimbing yang telah dicuci dengan menggunakan air mengalir kemudian dikeringkan hingga kering angin.

3.4.4. Pengemasan dan penyimpanan

Setelah buah belimbing kering angin selanjutnya buah belimbing dibungkus dengan menggunakan pengemas yang telah ditentukan pada perlakuan, yaitu pengemas kertas koran, plastik wrap, dan foamnet. Penyimpanan dilakukan dengan menggunakan nampan yang kemudian dibungkus plastik yang telah diberi lubang. Alur pengemasan pada buah belimbing dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 4. Alur pengemasan buah belimbing

3.5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 28 hari penyimpanan buah belimbing dengan parameter yang diamati sebagai berikut :

3.5.1. Susut Bobot (AOAC, 1984 *dalam* Mardiana, 2008)

Pengukuran susut bobot dilakukan secara gravimetri , yaitu mengurangi selisih bobot sebelum penyimpanan dengan sesudah penyimpanan. Parameter ini diamati 3 hari sekali selama 12 hari. Dengan rumus :

$$\% \text{ Susut bobot} = \frac{(\text{Bobot Awal} - \text{Bobot Akhir})}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

3.5.2. Tingkat Kekerasan Buah (Firmness) (Gardjito, 2003 *dalam* Mardiana, 2008).

Tingkat kekerasan buah diukur dengan menggunakan sebuah alat yaitu penetrometer. Sebelum digunakan, pastikan jarum penunjuk telah menunjukan angka nol. Permukaan buah belimbing ditusuk dengan jarum yang terdapat pada alat, dengan menekan tus selama ± 10 detik, dilepaskan dan dibaca nilai yang tertera pada jarum penunjuk. Satuan kekerasan buah dinyatakan dalam mm per detik dengan berat beban dinyatakan dalam gram. Pengamatan dilakukan 3 hari sekali hingga 12 hari.

3.5.3. Kadar Vitamin C (Jacobs, 1959 *dalam* Mardiana, 2008)

Pengukuran kadar vitamin C dilakukan 3 hari sekali selama 12 hari, dengan menghancurkan 100 gr bahan dengan blender. Kemudian dimasukan kedalam labu takar ukur 250 ml, encerkan sampai tanda tera dengan menambah air destilata yang digunakan sebagai pembilas blender, selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh sebanyak 25 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 2 - 3 tetes pati 1%, kemudian dititrasi dengan larutan iod

0,01 N sampai timbul perubahan warna yang stabil (biru ungu). Setiap sebanding dengan 0,88 mg asam askorbat, sehingga kadar asam askorbat (vitamin C) dari bahan dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Asam askorbat} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \text{ bahan} \right) = \frac{\text{ml iod} \times 0,01 \text{ N} \times 0,88 \times \text{fp}}{\text{berat contoh}} \times 100$$

fp : faktor pengencer

3.5.4. Total Soluble Solid (Padatan terlarut) (AOAC, 1984 *dalam* Mardiana, 2008).

Pengukuran total padatan terlarut dilakukan ketika awal penyimpanan sampai dengan akhir penelitian setiap 3 hari sekali selama 12 hari, diamati dengan menggunakan alat Refraktometer. Dengan cara mengambil sampel buah belimbing yang dihaluskan, kemudian teteskan sampel yang sudah dihaluskan kepermukaan kaca refraktometer dan melihat nilai total padatan terlarut. Setelah itu ukur nilai total padatan terlarutnya yang berada diambang batas terang dan gelap. Satuan padatan terlarut yaitu ⁰Brix.

3.5.5. Persentase Keparahan Serangan

Keparahan serangan penyakit diamati 2 hari setelah penyimpanan sampai dengan penelitian selesai. Pengukuran dinyatakan dalam

$$\frac{\% \text{ Luas Area Yang Terserang}}{\text{Jumlah Buah Yang Diamati}}$$

3.5.6. Intensitas Serangan Penyakit

Intensitas serangan penyakit pada buah diamati setiap 2 hari sekali selama penyimpanan. Pengukuran intensitas serangan dinyatakan dalam

$$\frac{\text{Jumlah buah yang terserang}}{\text{Jumlah buah yang diamati}} \times 100\%$$

3.5.6. Identifikasi Penyakit

Identifikasi penyakit ini dilakukan dengan mengisolasi dan menanam patogen dengan cara mengambil sampel perlakuan yang terkena penyakit pada tiap perlakuan yang berbeda pada media PDA yang telah disiapkan, kemudian mengamati morfologi secara makroskopis dan mikroskopis.

Tahap–tahap isolasi penyakit sebagai berikut :

1. Sterilisasi alat

Seluruh peralatan seperti cawan petri, pinset, skalpel, jarum ose yang akan digunakan dalam penelitian dicuci terlebih dahulu, selanjutnya dikeringkan dan dibungkus dengan kertas pembungkus. Sterilisasi alat menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 60 menit.

2. Pembuatan media PDA

Menimbang bahan yang terdiri dari 20 gr dektrose atau D-glukosa, 20gr agar, dan 200 gr kentang. Terlebih dahulu merebus kentang sebanyak 200 gr dengan 800 ml air aquades selama 15 menit dengan api kecil. Menyaring aquades rebusan kentang tersebut lalu menambahkan dengan 20 gr agar, dan ditambahkan air sampai 1000 ml. Merebus kembali larutan tersebut sambil diaduk hingga mendidih dan menambahkan 20 gr dextrose. Menuangkan larutan media kedalam cawan petri untuk disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

3. Isolasi

Setelah melakukan tahapan sterilisasi alat dan media yang akan digunakan, selanjutnya adalah mengisolasi bakteri pada buah belimbing dengan menggunakan media PDA. Langkah awal dari isolasi adalah menyiapkan buah belimbing yang

telah terserang penyakit kemudian cuci dengan aquades steril. Bahan yang dibersihkan tadi, pada batas antara jaringan sehat dan sakit, dipotong dan disterilkan dengan sodium hypoclorit selama 1-5 menit. Kemudian mencuci dengan menggunakan aquades sebanyak 3 kali, lalu keringkan dengan tissue steril. Tahap-tahap tersebut dilakukan secara aseptik. Selanjutnya memotong-motong bahan seukuran 1 mm², letakkan pada media PDA. Kemudian inkubasikan pada suhu kamar selama 5 - 7 hari.

4. Pemurnian

Isolat bakteri atau jamur yang sudah tumbuh pada media PDA, selanjutnya dilakukan pemurnian. Langkah awal menyiapkan isolat bakteri atau jamur yang sudah tumbuh. Kemudian memurnikan setiap jenis mikroba yang tumbuh dengan cara mengambil sebagian tubuh jamur atau bakteri. Cara memisahkan jamur adalah dengan cara mengambil sebagian kecil dari koloni jamur dan diletakkan di media yang sudah disiapkan, sedangkan cara memurnikan isolat bakteri adalah dengan cara menggoreskan menggunakan jarum ose secara zig - zag kedalam cawan petri yang berisi media PDA. Kemudian inkubasikan lagi selama 5-7 hari. Proses selanjutnya adalah melakukan identifikasi pada isolat yang sudah tumbuh, jika masih ada koloni yang berbeda atau kontaminan maka dilakukan pemurnian kembali.

5. Pengamatan

Morfologi diidentifikasi berdasarkan karakteristik dari jamur antara lain hifa, spora, warna koloni dan ciri-ciri lain, sedangkan bakteri antara lain bentuk koloni, warna koloni, ukuran, jumlah koloni, dan ciri lainnya, diamati dengan

menggunakan mikroskop. Membandingkan dengan literatur sehingga diketahui penyebab penyakit.

3.6 Analisis Data

Analisis data dengan menggunakan uji F (anova), kemudian penafsiran data dilakukan dengan cara uji lanjut dengan BNJ pada taraf $\alpha = 5\%$. Hasil penelitian disimpulkan dari penafsiran data dan dokumentasi.

